

## TOCOTRIENOL DERIVATIVE AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

Publication number: JP2002080475

Publication date: 2002-03-19

Inventor: TAKADA JIRO, KARUBE YOSHIHARU, MATSUNAGA KAZUHISA, HIDAKA RYOJI, FUJIWARA MICHIOHRO, IWASAKI KATSUNORI, MISHIMA KENICHI, IMAI KAZUHIRO, KOBAYASHI SHIZUKO

Applicant: TAKADA JIRO

Classification:

International: C07D311/72, C07D405/12, C07D311/00, C07D405/00, (IPC1:7) C07D311/72, C07D405/12

European: C07D311/72

Application number: JP20000268885 20000905

Priority number(s): JP20000268885 20000905

Also published as:

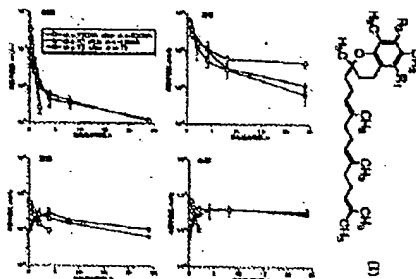
US6599933 (B2)

US2003027857 (A1)

Report a data error here

## Abstract of JP2002080475

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a tocotrienol derivative having high water-solubility and capable of rapidly releasing tocotrienol in vivo. **SOLUTION:** This tocotrienol derivative is a carboxylic acid ester derivative of tocotrienol, represented by general formula (1) (wherein, R2 is a carboxylic acid residue having a nitrogen substituent; and R1 and R3 are each a hydrogen atom or a methyl group).



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-80475

(P2002-80475A)

(43) 公開日 平成14年3月19日 (2002.3.19)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-ト (参考)
C 0 7 D 311/72	1 0 2	C 0 7 D 311/72	1 0 2 4 C 0 6 2
405/12		405/12	4 C 0 6 3

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2000-268885 (P2000-268885)

(22) 出願日 平成12年9月5日 (2000.9.5)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成12年3月5日  
日本薬学会第120年会組織委員会発行の「日本薬学会第  
120年会要旨集1」に発表

(71) 出願人 500415427

高田 二郎

福岡県福岡市西区生松台1丁目19番14号

(72) 発明者 高田 二郎

福岡県福岡市西区生松台1丁目19番14号

(72) 発明者 加留部 善晴

福岡県福岡市城南区梅林1丁目6番20号

(72) 発明者 松永 和久

福岡県福岡市東区馬出2丁目19番5-303号

(74) 代理人 100092901

弁理士 岩橋 祐司

最終頁に続く

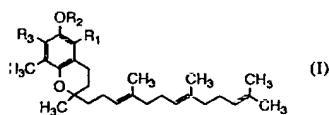
(54) 【発明の名称】 トコトリエノール誘導体及びその製造方法

(57) 【要約】

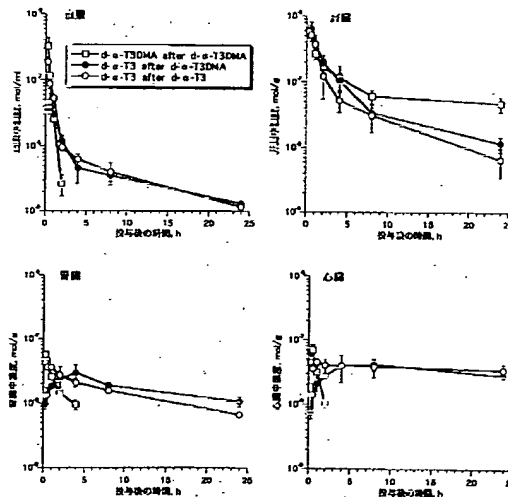
【課題】 本発明の目的は高い水溶性とともに生体内で迅速に遊離トコトリエノールを生成し得るトコトリエノール誘導体を提供することにある。

【解決手段】 一般式 (I)

【化1】



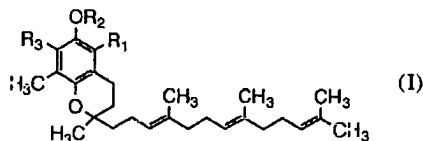
(式中R<sub>2</sub>は窒素置換基を有するカルボン酸残基を意味する。R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>は水素原子またはメチル基を意味する)で表されるトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】 一般式(I)

## 【化1】



(式中 $R_2$ は窒素置換基を有するカルボン酸残基を意味する。 $R_1$ 、 $R_3$ は水素原子またはメチル基を意味する)で表されるトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体。

【請求項2】 請求項1記載の誘導体において、窒素置換基を有するカルボン酸残基が、アミノ酸、N-アシルアミノ酸、N-アルキルアミノ酸、N、N-ジアルキルアミノ酸、ピリジンカルボン酸及びそれらのハロゲン化水素酸塩またはアルキルスルホン酸塩の残基からなる群より選択される少なくとも一種であることを特徴とするトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体。

【請求項3】 1級または2級アミノ基あるいは側鎖に水酸基、チオール基を有するアミノ酸のアミノ基を保護基で保護し、該保護基結合アミノ酸とトコトリエノールとをエステル化反応させることを特徴とするトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体の製造方法。

【請求項4】 N、N-ジアルキルアミノ酸のハロゲン化水素酸塩を用いて活性エステル化試薬の存在下にトコトリエノールとエステル化反応させることを特徴とするトコトリエノールカルボン酸誘導体の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はトコトリエノール誘導体およびその製造方法、特にその水溶性の改良に関する。

## 【従来の技術】

【0002】トコトリエノール類は、パーム油や穀類の子実に含まれるビタミンE同族体であり、トコフェロールと同様に6-クロマノール骨格を有する。そして、クロマノール骨格2位の炭素16個からなる疎水性基が異なっており、トコトリエノールはトリプレニル基を、トコフェロールはフィチル基を有する。トコトリエノールはクロマノール骨格のメチル基の置換数と置換部位によって、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ -トコトリエノールの四種類に分類されている。

【0003】これらのトコトリエノール類は、医薬品としてはコレステロール血症、アテローム性動脈硬化症、癌、免疫賦活、アルツハイマー、酸化障害が原因となる病態(心臓、脳、肝臓、皮膚)に対する優れた効果が期待されている。また、最近ではナトリウム利尿ホルモン様利尿剤、パーオキシニトリルの捕捉薬としての期待が寄せられている。更に、トコトリエノールはUVによ

るタンパク質の酸化、脂質過酸化、DNA損傷に対して保護作用を持つことから、コラーゲンタンパク質の酸化的障害の防護効果、すなわち皺取りと皺予防効果、及び美白効果が期待される。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、トコトリエノール類は、いずれも酸化に対して不安定であり、しかも油状で水に全く溶解しない化合物である。このため、トコトリエノールの水溶性製剤または水性化粧品調製には大量の非イオン性界面活性剤の添加による可溶化方法が検討されているが、大量の界面活性剤はアナフィラキシーショック等の重篤な問題を生じる場合がある。

【0005】そこで、酸化に対して安定性を示すとともに、高い水溶性を有し、生体内で容易に加水分解されて遊離のトコトリエノールを生成するようなトコトリエノール誘導体が求められている。

【0006】従来、水分散性ないし水溶解性を有するトコトリエノール誘導体として、トコトリエノールコハク酸エステルとトコトリエノールコハク酸エステルのポリエチレングリコール誘導体が知られている(米国特許5,869,704)しかしながら、これらの化合物は室温で油状あるいはワックス状であり、また生体内でのトコトリエノールへの再変換が非常に遅いという問題が残っていた。

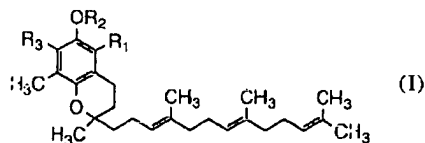
【0007】本発明は前記従来技術の課題に鑑みなされたものであり、その目的は高い水溶性とともに生体内で迅速に遊離トコトリエノールを生成し得るトコトリエノール誘導体を提供することにある。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】前記目的を達成するため本発明者等が鋭意検討を行った結果、特定のトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体が、優れた水溶性および生体内での遊離トコトリエノール放出性を発揮し得ることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】すなわち、本発明にかかるトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体は、一般式(I)

## 【化2】



(式中 $R_2$ は窒素置換基を有するカルボン酸残基を意味する。 $R_1$ 、 $R_3$ は水素原子またはメチル基を意味する)で表されることを特徴とする。

【0010】また、本発明において、窒素置換基を有するカルボン酸残基が、アミノ酸、N-アシルアミノ酸、N-アルキルアミノ酸、N、N-ジアルキルアミノ酸、ピリジンカルボン酸及びそれらのハロゲン化水素酸塩ま

たはアルキルスルホン酸塩の残基からなる群より選択される少なくとも一種であることが好適である。

【0011】また、本発明にかかるトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体の製造方法は、1級または2級アミノ基あるいは側鎖に水酸基、チオール基を有するアミノ酸のアミノ基を保護基で保護し、該保護基結合アミノ酸とトコトリエノールとをエステル化反応させることを特徴とする。

【0012】また、本発明にかかる他の製造方法は、N、N-ジアルキルアミノ酸のハロゲン化水素酸塩を用いて活性エステル化試薬の存在下にトコトリエノールとエステル化反応させることを特徴とする。なお、一般式(I)で表されるトコトリエノール誘導体は、クロマノール骨格の2位に不整炭素を有するので、d、dl体などの立体異性体が存在するが、本発明はこれらの異性体を包含するものである。

【0013】

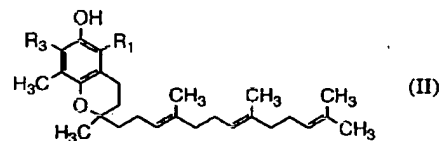
【発明の実施の形態】以下、本発明の好適な実施形態について説明する。本発明において、窒素置換基を有するカルボン酸残基は、窒素原子に対し水素原子なし、1または2のアルキル基、アシル基が結合したものが好適である。このアルキル基としては、炭素数1〜6の直鎖、もしくは分枝のアルキル基、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、n-ブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基、イソプロピル基、イソブチル基、1-メチルプロピル基、tert-ブチル基、1-エチルプロピル基、イソアミル基などを例示することが可能であり、特にメチル基、エチル基が好ましい。また、アシル基を有する場合の炭化水素鎖も同様に定義可能である。

【0014】アミノ基とカルボニル基の間は、好ましくは炭素数1〜7の直鎖、分枝または環状のアルキレン基で結合される。分枝状のアルキレン基とは、例えばイソプロピル、イソブチル、tert-ブチル、1-エチルプロピルなどのアルキル基から誘導されたアルキレン基を意味する。環状アルキレン基とは、シクロペンタン環、シクロヘキサン環、あるいはメチルシクロヘキサン環などを構造中に含むアルキレン基を意味する。アルキレン基として特に好ましいのは、メチレン基あるいはエチレン基である。

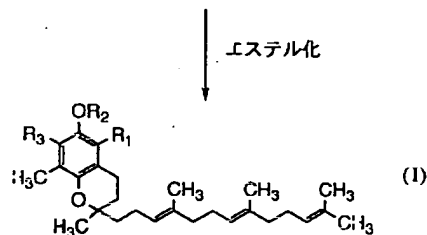
【0015】ハロゲン化水素酸塩としては、HCl塩、HBr塩などが好ましい。本発明において、ハロゲン化水素酸塩は結晶化ないし固化する場合が多く、製剤にあたっての取り扱いが容易になるという利点がある。また、アルキルスルホン酸塩としては、メタンスルホン酸塩等が例示される。このアルキルスルホン酸塩とした場合には、吸湿性の低い固化が可能である。

【0016】次に、本発明にかかるトコトリエノール誘導体の製造方法としては、以下のようなものが例示される。

【化3】



(式中、R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>は前記の意味を有する。)



(式中、R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>は前記の意味を有する。)

一般式(II)で表されるトコトリエノール類と、窒素置換基を有するカルボン酸、もしくはその反応性酸誘導体、またはこれらのハロゲン化水素酸塩とを、常法によりエステル化反応を行うことにより、本発明の目的物質(I)を得ることができる。

【0017】トコトリエノール類のエステル化反応は常法に従うが、1級、2級アミノ基あるいは側鎖に水酸基、チオール基を有するアミノ酸のエステル化を行う際は、tert-ブトキシカルボニル基(以下、t-BOC基という)、ベンジルオキシカルボニル基(以下、Z基という)などの適切な保護基で保護して用いることが好ましい。

【0018】また、N、N-ジアルキルアミノ酸はハロゲン化水素酸塩を用いて、ジシクロヘキシルカルボジミド(以下、DCCという)、N、N-ジサクシニミドオキサレート(以下、DSOという)などの活性エステル化試薬の存在下に反応を行うことが好ましい。この際の溶媒としては、無水ピリジンが好ましい。

【0019】また、反応性酸誘導体を用いる方法では、酸ハロゲナイト、特に酸クロリドを用いる方法が好ましい。この際の溶媒としては、無水ベンゼン-無水ピリジン混合物が好ましい。ハロゲン化水素酸塩及びアルキルスルホン酸塩は、常法により遊離のアミノ酸エステルとハロゲン化水素酸またはアルキルスルホン酸を反応させて製造する。また、N-アシルアミノ酸エステルを製造した後、常法によりハロゲン化水素酸で脱保護基化することによって、ハロゲン化水素酸塩を製造することができる。なお、本発明にかかるトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体は、胆汁酸塩とすることも可能である。

【0020】ここで、胆汁酸塩とは、具体的には、タウロコール酸、グリココール酸、コール酸、タウロデオキシコール酸、デオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸、グリコケノデオキシコール酸、ウルソデオキシコール酸の塩等をいう。そして、前記トコトリエノール

カルボン酸エステルとこれらの胆汁酸を反応させて胆汁酸塩を得ることができる。例えばメタノール、エタノール、プロパノールなどの低級アルコール系の溶媒を用い、反応終了後、溶媒を減圧下で留去することによりトコトリエノールカルボン酸エステル胆汁酸塩を得ることができる。

【0021】本発明で得られる目的物質(1)は、生体内に広範囲に存在する加水分解酵素で容易に加水分解されてトコトリエノールを生成する。また、ハロゲン化水素酸塩及びアルキルスルホン酸塩は結晶性の粉末であり、製剤技術上、取り扱いが容易且つ簡便であり、比較的高い水溶性を有する。従って、静脈内投与可能な製剤、点眼剤、経口投与剤、水性塗布剤として有用である。

【0022】

【実施例】以下、本発明の好適な実施例について説明する。なお、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0023】実施例1~18

下記製造方法A~Dに示す方法により表1、表3に示すトコトリエノール誘導体を製造した。また、表1に示す化合物の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを表2に示す。

【0024】[製造方法A] アミノ酸0.1molを蒸留水-ジオキサン(1:1, v/v) 100mlに溶解し、トリエチルアミン30mlを加え、さらにジ-tert-ブチルジカルボネートを徐々に加え、30分間室温で攪拌する。減圧下ジオキサンを留去し、炭酸水素ナトリウム水溶液(0.5M) 50mlを加え、酢酸エチル100mlで洗う。酢酸エチル層を50mlの炭酸水素ナトリウム液で洗い、水層を合わせて水冷下でクエン酸水溶液(0.5M)を加えて酸性(pH3)とし、塩化ナトリウムを飽和させた後、酢酸エチルで抽出する(100ml×3回)。抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧下に溶媒を留去し、油状残渣をイソプロピルエーテルを加えるか、または冷却にて結晶化させてN-tert-BOCアミノ酸を得る。

【0025】アルゴンガス雰囲気下で、トコトリエノール5mmol、N-tert-BOCアミノ酸5mmol、DCC 5mmolを無水ピリジン30mlに加え室温で20時間攪拌する。溶媒を減圧下留去し、残渣に酢酸エチルを加えて可溶性画分を抽出する(100ml×2回)。抽出液を減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶離溶媒:n-ヘキサン-酢酸エチル=9:1)で分

離精製し、トコトリエノールN-tert-BOCアミノ酸エステルを得る。

【0026】トコトリエノールN-tert-BOCアミノ酸エステルを少量のアセトンに溶解し、塩酸-ジオキサン(2.5~4.0N)を塩酸量がエステルの20倍モル量に相当する量加え、1時間攪拌後、減圧下溶媒を留去する。残渣をアセトン-メタノール系または酢酸エチル-メタノール系で再結晶して、トコトリエノールアミノ酸の塩酸塩を得る。

【0027】[製造方法B] トコトリエノールアミノ酸の塩酸塩3mmolを水150mlに加え、炭酸水素ナトリウムを加えて溶液のpHを7~8にした後に、酢酸エチルで抽出する(100ml×3回)。抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後減圧下溶媒を留去し、油状のトコトリエノールアミノ酸を得る。

【0028】[製造方法C] アルゴンガス雰囲気下で、トコトリエノール5mmol、塩酸N、N-ジアルキルアミノ酸5mmol、DCC 5mmolを無水ピリジン30mlに加え、室温で20時間攪拌する。溶媒を減圧下留去し、残渣を蒸留水に懸濁させ炭酸水素ナトリウムを加えて溶液のpHを7~8にした後、酢酸エチルで抽出する(100ml×3回)。抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後減圧下溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶離溶媒:n-ヘキサン-酢酸エチル=8:2)で分離精製し、トコトリエノールN、N-ジアルキルアミノ酸を得る。

【0029】[製造方法D] トコトリエノールアミノ酸またはトコトリエノールN、N-ジアルキルアミノ酸2mmolをアセトン20mlに溶解し、塩酸-ジオキサン(2.5~4.0N)を塩酸量がエステルの10倍モル量に相当する量、またはアルキルスルホン酸2mmolを加え、減圧下溶媒を留去する。残渣をアセトン-メタノール系または酢酸エチル-メタノール系で再結晶して、トコトリエノールアミノ酸またはトコトリエノールN、N-ジアルキルアミノ酸の塩酸塩を得る。

【0030】以下、本発明にかかる化合物の具体的化学式及びその物性、製造方法について、図1、3に示す。なお、実施例1~7については、質量分析(m/z, FAB-MS)及び核磁気共鳴スペクトル(<sup>1</sup>H-NMR,  $\delta$  ppm, 内部標準TMS)を表2に示す。

【0031】

【表1】

実施例	化合物名	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	塩	形状	融点	製造法
1	d- $\alpha$ - 塩酸塩	CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	HCl	白色結晶	167-173	A,D
2	d- $\alpha$ - N- 塩酸塩	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> NHCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	HCl	白色結晶	170-173	A,D
3	d- $\gamma$ - 塩酸塩	H	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	HCl	白色結晶	195-198	A,D

4	d- $\gamma$ - N-	H	CH <sub>3</sub> NHCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	HCl	白色結晶	130-132	A,D
			塩酸塩					
5	d- $\alpha$ - N,N-	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	HCl	白色結晶	186-188	B,D
			塩酸塩					
6	d- $\gamma$ - N,N-	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	HCl	白色結晶	160-161	B,D
			塩酸塩					
7	d- $\delta$ - N,N-	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CO-	H	HCl	白色固形	測定不能	A,D
			塩酸塩			(吸湿性のため)		

【0032】

【表2】

実施例	質量分析	<sup>1</sup> H-NMRスペクトル
1	482(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 8.76(2H,s), 5.09(3H,m), 4.09(2H,s), 2.50(2H,t), 2.11-1.89(19H,m, including 2.02(3H,s), 1.92(3H,s), 1.89(3H,s)), 1.74-1.47(16H,m, including 1.67(3H,s), 1.59(6H,s), 1.55(3H,s)), 1.27(3H,s)
2	496(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 9.95(1H,s), 5.10(3H,m), 4.09(2H,s), 2.80(3H,s), 2.56(2H,t), 2.12-1.97(19H,m, including 2.07(3H,s), 2.00(3H,s), 1.97(3H,s)), 1.78-1.52(16H,m, including 1.67(3H,s), 1.59(6H,s), 1.56(3H,s)), 1.27(3H,s)
3	468(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 8.67(2H,s), 6.61(1H,s), 5.10(3H,m), 4.04(2H,s), 2.60(2H,m), 2.16-1.92(16H,m, including 2.02(3H,s), 1.92(3H,s)), 1.69-1.49(16H,m, including 1.67(3H,s), 1.58(6H,s), 1.55(3H,s)), 1.24(3H,s)
4	482(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 10.01(1H,s), 6.66(1H,s), 5.11(3H,m), 4.04(2H,s), 2.81(3H,s), 2.66(2H,m), 2.10-1.95(16H,m, including 2.08(3H,s), 2.01(3H,s)), 1.69-1.49(16H,m, including 1.67(3H,s), 1.59(6H,s), 1.56(3H,s)), 1.24(3H,s)
5	510(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 5.10(3H,m), 4.60(2H,s), 3.06(6H,s), 2.64(2H,t), 2.15-1.93(19H,m, including 2.11(3H,s), 2.04(3H,s), 2.01(3H,s)), 1.85-1.54(16H,m, including 1.65(3H,s), 1.58(3H,s), 1.56(3H,s)), 1.27(3H,s)
6	496(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 6.63(1H,s), 5.10(3H,m), 4.21(2H,s), 3.09(6H,s), 2.72(2H,m), 2.13-1.95(16H,m, including 2.12(3H,s), 2.02(3H,s)), 1.81-1.59(16H,m, including 1.68(3H,s), 1.60(6H,s), 1.59(3H,s)), 1.28(3H,s)
7	482(M-HCl+H <sup>+</sup> )	(in CDCl <sub>3</sub> ) 6.73(1H,s), 6.69(1H,s), 5.12(3H,m), 4.15(2H,s), 3.08(6H,s), 2.74(2H,m), 2.16-1.90(13H,m, including 2.16(3H,s)), 1.86-1.52(16H,m, including 1.67(3H,s), 1.60(6H,s), 1.56(3H,s)), 1.28(3H,s)

【0033】一般にトコトリエノール類は、非常に粘性の高い油状物質であり、正確な秤量を含め、取り扱いが困難である。これに対し、本発明のトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体のハロゲン化水素塩は、前記実

施例1～7のように結晶ないし固形となり、取り扱いが極めて簡便となる利点を有する。この点、前記従来のトコトリエノールコハク酸エステルなどは、油状ないしワックス状であり、取り扱いが一般のトコトリエノール類

と同様困難であり、ハロゲン化水素塩は本発明の特に好ましい形態として特筆される。

【0034】

【表3】

実施例	化合物名	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	性状	質量分析	製造法
8	d- $\alpha$ - N-t-BOC-	CH <sub>3</sub>	N-t-BOC-NHCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	582	A
9	d- $\alpha$ - N-t-BOC-N-	CH <sub>3</sub>	N-t-BOC-N(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	596	A
10	d- $\gamma$ - N-t-BOC-	H	N-t-BOC-NHCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	568	A
11	d- $\gamma$ - N-t-BOC-N-	H	N-t-BOC-N(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	582	A
12	d- $\alpha$ -	CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	482	C
13	d- $\alpha$ - N-	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> NHCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	496	C
14	d- $\gamma$ -	H	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	468	C
15	d- $\gamma$ - N-	H	CH <sub>3</sub> NHCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	482	C
16	d- $\alpha$ - N,N-	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	510	C
17	d- $\gamma$ - N,N-	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CO-	CH <sub>3</sub>	油状	496	C
18	d- $\delta$ - N,N-	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CO-	H	油状	482	C

## 【0035】水溶性試験

## 1) 実験方法

d- $\alpha$ -トコリエノール、d- $\gamma$ -トコリエノール、d- $\delta$ -トコリエノール、d- $\alpha$ -トコリエノール アミノアセテート塩酸塩（実施例1：以下、d- $\alpha$ -T3AA）、d- $\alpha$ -トコリエノール N-メチルアミノアセテート塩酸塩（実施例2：以下、d- $\alpha$ -T3MA）、d- $\alpha$ -トコリエノール N,N-ジメチルアミノアセテート塩酸塩（実施例5：以下、d- $\alpha$ -T3DMA）、d- $\gamma$ -トコリエノール アミノアセテート塩酸塩（実施例3：以下、d- $\gamma$ -T3AA）、d- $\gamma$ -トコリエノール N-メチルアミノアセテート塩酸塩（実施例4：以下、d- $\gamma$ -T3MA）、d- $\gamma$ -トコリエノール N,N-ジメチルアミノアセテート塩酸塩（実施例6：以下、d- $\gamma$ -T3DMA）、d- $\delta$ -トコリエノール N,N-ジメチルアミノアセテート塩酸塩（実施例7：以下、d- $\delta$ -T3DMA）のそれぞれ0.250mmolをメスフラスコにとり、蒸留水を加えて5mlとし、20℃、24時間攪拌後、溶液中の各添加化合物濃度を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。

## 【0036】2) 結果

d- $\alpha$ -トコリエノール、d- $\gamma$ -トコリエノール及びd- $\delta$ -トコリエノールはいずれもHPLCの検

出限界以下で、溶解度は測定できなかった。d- $\alpha$ -T3AA、d- $\alpha$ -T3MA、d- $\gamma$ -T3AA、d- $\gamma$ -T3MA、d- $\gamma$ -T3DMA及びd- $\delta$ -T3DMAはいずれも溶液となり、溶解度は50mM以上であった。

## 【0037】加水分解性実験

## 1) 方法

SD系ラット肝臓ミクロソーム及びラット血漿の等張リン酸緩衝液に、d- $\alpha$ -トコリエノール N,N-ジメチルアミノアセテート塩酸塩（実施例5：以下、d- $\alpha$ -T3DMA）、d- $\alpha$ -トコリエノール N-メチルアミノアセテート塩酸塩（実施例2：以下、d- $\alpha$ -T3MA）、d- $\gamma$ -トコリエノール N,N-ジメチルアミノアセテート塩酸塩（実施例6：以下、d- $\gamma$ -T3DMA）、d- $\gamma$ -トコリエノール N-メチルアミノアセテート塩酸塩（実施例4：以下、d- $\gamma$ -T3MA）、d- $\gamma$ -トコリエノールアミノアセテート塩酸塩（実施例3：以下、d- $\gamma$ -T3AA）を添加し、37℃で経時的に反応溶液中に生成するd- $\alpha$ -トコリエノール及びd- $\gamma$ -トコリエノールを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。

【0038】比較例として、同様にd- $\alpha$ -トコリエノールコハク酸エステル（以下、d- $\alpha$ -T3S）とd- $\gamma$ -トコリエノールコハク酸エステル（以下、d-

$\gamma$ -T3S) について加水分解実験を行った。HPLC 条件: カラムはCAPCELL PAK UG120、移動相はメタノール-アセトニトリル(5:5 v/v)、流速0.7 ml/min、検出は283 nmの吸光度と蛍光光度(励起298 nm、蛍光325 nm)で行った。

#### 【0039】2) 結果

肝臓ミクロソーム	$K_m(\times 10^{-3} M)$	$V_{max}(\times 10^{-6} M/min)$	$V_{max}/K_m(\times 10^{-3} min^{-1})$
d- $\alpha$ -T3DMA	5.966	146.5	24.55
d- $\alpha$ -T3MA	0.1691	1.878	11.11
d- $\alpha$ -T3S	0.03027	0.05588	1.846
d- $\gamma$ -T3DMA	5.575	323.0	56.10
d- $\gamma$ -T3MA	2.097	120.4	57.42
d- $\gamma$ -T3AA	1.563	77.16	49.38
d- $\gamma$ -T3S	0.02207	0.7161	32.44

#### 【0041】

血漿	$K_m(\times 10^{-3} M)$	$V_{max}(\times 10^{-6} M/min)$	$V_{max}/K_m(\times 10^{-3} min^{-1})$
d- $\alpha$ -T3DMA	0.7930	0.09187	0.1159
d- $\alpha$ -T3MA	1.549	0.5808	0.3749
d- $\alpha$ -T3S	0.5065	0.04946	0.09767
d- $\gamma$ -T3DMA	0.7860	7.592	9.659
d- $\gamma$ -T3MA	12.71	51.78	4.074
d- $\gamma$ -T3AA	5.507	35.94	6.527
d- $\gamma$ -T3S	1.052	1.945	1.849

【0042】トコトリエノールの窒素置換基を有するカルボン酸エステルはトコトリエノールコハク酸エステルに比較して速やかにトコトリエノールを生成した。この加水分解反応はエステラーゼ阻害剤で強く阻害される(図1参照)ことから、エステラーゼで触媒されることが明らかになった。本発明化合物は、従来のコハク酸エステルに比較してトコトリエノールの優れた誘導体であることが理解される。

#### 【0043】[動物実験]

静脈内投与

1) SD系雄性ラット(体重260~285 g)を薬物投与前16時間から食餌を氷砂糖に変更して用いた。d- $\alpha$ -T3DMA(実施例5)、d- $\gamma$ -T3DMA(実施例6)、d- $\alpha$ -トコトリエノール(以下、d- $\alpha$ -T3)、d- $\gamma$ -トコトリエノール(以下、d- $\gamma$ -T3という)を軽度麻酔下、左大腿静脈内に投与した。d- $\alpha$ -T3DMAとd- $\gamma$ -T3DMAの投与液は10%アロピレングリコールを含む蒸留水に溶解し、メンブランフィルター(0.22  $\mu m$ )で濾過して用いた。d- $\alpha$ -T3とd- $\gamma$ -T3の投与液は、非イオン性界面活性剤HCO-60を用いて溶解した。投与量は、各トコトリエノール当量25 mg/kgとした。投与0.25、0.5、1、2、4、8、24時間後にエーテル麻酔下で採血後、肝臓、心臓、腎臓を採取した。血漿は速やかに分離採取した。各臓器重量の3倍量の1、

ラット肝ミクロソーム及びラット血漿溶液におけるd- $\alpha$ -トコトリエノール及びd- $\gamma$ -トコトリエノールの生成のMichaelis-Mentenモデルに従った速度論パラメータを表4及び表5に示した。

#### 【0040】

##### 【表4】

##### 【表5】

15%塩化カリウム溶液を加え、ホモジネートした。各試料0.2 mlにエタノール0.7 mlを加え、2分間攪拌後、遠心分離し、上清を前記HPLCで分析した。

【0044】結果を図2、3に示す。図2は、d- $\alpha$ -T3DMAとd- $\alpha$ -T3を投与した場合のラット体内動態を検討した結果を示し、横軸は投与後の時間を、縦軸は各組織または臓器中の量を示す。d- $\alpha$ -T3DMAは投与後速やかに血漿から消失し肝臓に移行した。肝臓中のd- $\alpha$ -T3量は急速に高くなり、d- $\alpha$ -T3投与群と同程度の量で推移し、肝臓中d- $\alpha$ -T3のバイオアベイラビリティは130%となった。このことから、d- $\alpha$ -T3DMAは、投与後速やかにラット体内で加水分解されてd- $\alpha$ -T3を生成することが支持される。

【0045】図3はd- $\gamma$ -T3DMAとd- $\gamma$ -T3を投与した場合のラット体内動態を検討した結果を示し、横軸は投与後の時間を、縦軸は各組織または各臓器中の量を示す。d- $\gamma$ -T3DMAは投与後速やかに血漿から消失し、肝臓に移行した。肝臓中のd- $\gamma$ -T3量は急速に高くなり、d- $\gamma$ -T3投与群と比較して優位に高く推移し、肝臓中d- $\gamma$ -T3のバイオアベイラビリティは213%となった。また、血漿中d- $\gamma$ -T3も急速に高くなり、肝臓で生成したd- $\gamma$ -T3は速やかに血漿中に移行することが支持される。d- $\gamma$ -T3DMAは、投与後速やかにラット体内で加水分解さ



れ、 $d-\gamma-T3$ を生成することが理解される。

【0046】

【発明の効果】以上説明したように本発明にかかるトコトリエノールカルボン酸エステル誘導体によれば、窒素置換基を有するカルボン酸とトコトリエノールのエステルとすることにより、水溶性が向上し、しかも生体内で迅速且つ効率的にトコトリエノールの放出がなされる。

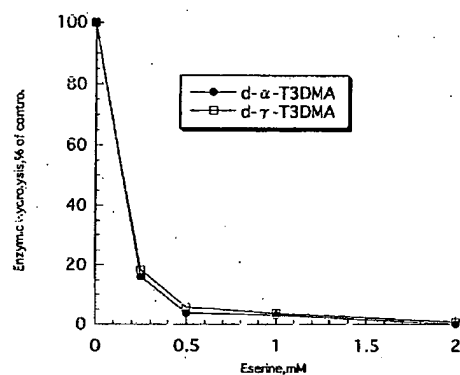
【図面の簡単な説明】

【図1】トコトリエノールカルボン酸エステル誘導体の加水分解反応に対するエステラーゼ阻害剤の影響の説明図である。

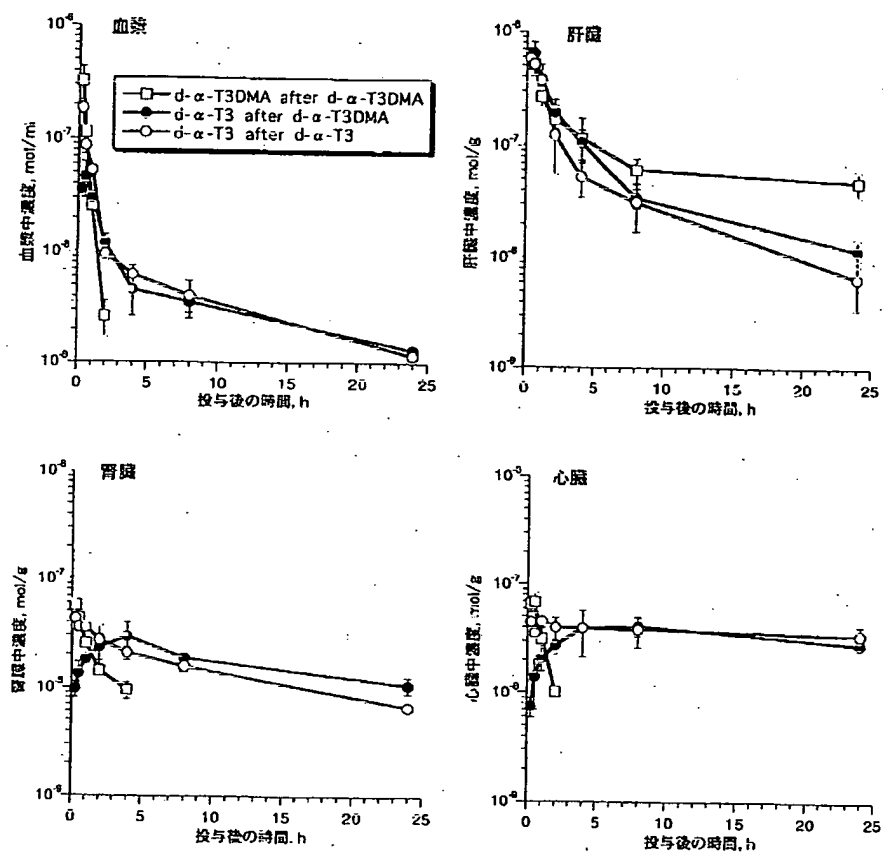
【図2】 $d-\alpha-T3DMA$ と $d-\alpha-T3$ を投与した場合のラット体内動態を検討した結果の説明図である。

【図3】 $d-\gamma-T3DMA$ と $d-\gamma-T3$ を投与した場合のラット体内動態を検討した結果の説明図である。

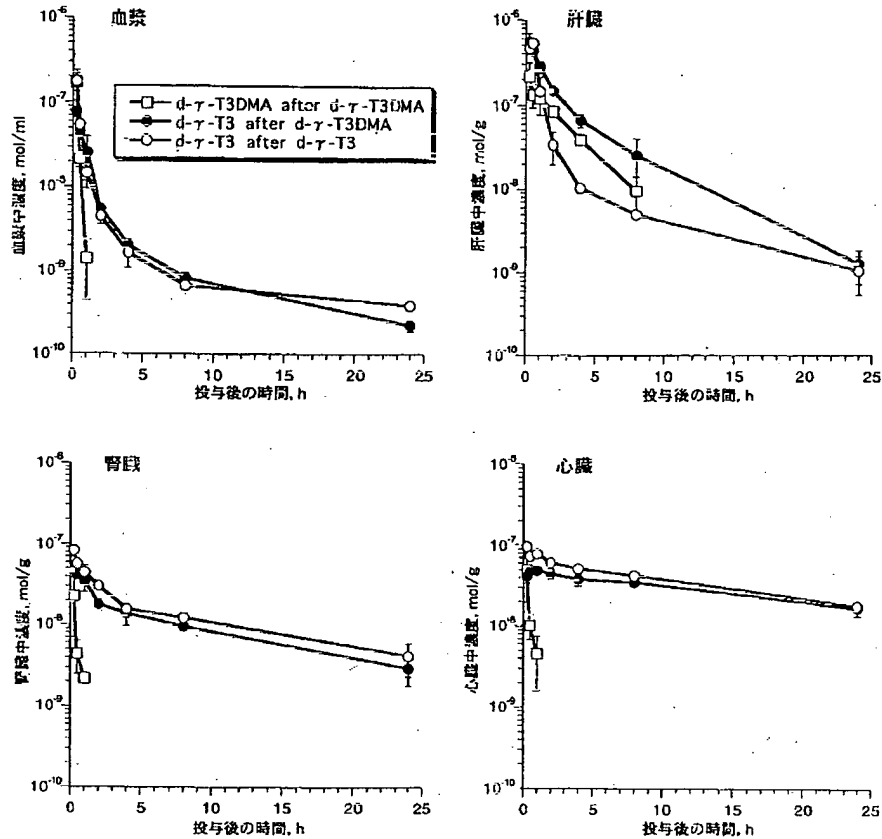
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 日高 亮司  
福岡県福岡市城南区七隈7丁目1番16-  
201号  
(72)発明者 藤原 道弘  
福岡県福岡市中央区梅光園2丁目17番14号  
(72)発明者 岩崎 克典  
福岡県福岡市城南区神松寺2丁目16番8-  
704号

(72)発明者 三島 健一  
福岡県福岡市早良区原8丁目15番5-306  
号  
(72)発明者 今井 一洋  
東京都世田谷区代田6丁目15番18号  
(72)発明者 小林 静子  
東京都練馬区富士見台2丁目26番9号  
Fターム(参考) 4C062 FF30  
4C063 AA01 BB08 CC79 DD12 EE01